# BEEINFLUSSUNG DES CARCINOMWACHSTUMS DURCH ANTIKOAGULANTIEN

## FIBRINBILDUNG BEIM ADENOCARCINOM DES CORPUS UTERI

REINER HARTENSTEIN

1960

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545804_0088

AUS DER I. FRAUENKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. W. BICKENBACH

# BEEINFLUSSUNG DES CARCINOMWACHSTUMS DURCH ANTIKOAGULANTIEN

## FIBRINBILDUNG BEIM ADENOCARCINOM DES CORPUS UTERI

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

REINER HARTENSTEIN

aus Leipzig

München 1968

LEIDIG-Druck, 8 München 2, Dachauerstr. 46/I, Tel. 592124

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

| | |
|---|---|
| Berichterstatter: | Priv. Doz. Dr. H. LUDWIG |
| Mitberichterstatter: | Professor Dr. W. BICKENBACH |
| Dekan: | Professor Dr. F. MARGUTH |

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Dezember 1968

MEINEN ELTERN GEWIDMET

UNIV.
LEIDEN.
BIBL.

# INHALTSVERZEICHNIS


| | | Seite |
|---|---|---|
| I. | Erste Untersuchungen über Wachstumshemmung von Normal- und Tumorgewebe durch Antikoagulantien | 7 |
| II. | Arten und Pharmakologie der Antikoagulantien sowie Ergebnisse ihrer Anwendung | 8 |
| III. | Wirkungsmechanismen und Angriffspunkte der Antikoagulantien an der Carcinomzelle | 15 |
| IV. | Neuere Erkenntnisse über gerinnungsspezifische Eigenschaften von Tumoren und Tumorzellen | 19 |
| V. | Beeinflussung der gerinnungsspezifischen Eigenschaften von Tumoren und seiner Zellen durch Antikoagulantien | 25 |
| VI. | Eigene Untersuchungen über Fibrinbildung beim Adenocarcinom des Corpus uteri | 27 |
| | 1. Material | 27 |
| | 2. Methodik | 28 |
| | 3. Ergebnisse | 29 |
| | 4. Diskussion | 31 |
| VII. | Therapeutische Konsequenz | 32 |
| VIII. | Zusammenfassung | 34 |
| IX. | Literaturverzeichnis | 36 |

# I. ERSTE UNTERSUCHUNGEN ÜBER WACHSTUMSHEMMUNG VON NORMAL- UND TUMORGEWEBE DURCH ANTIKOAGULANTIEN

Versuche, das Gewebewachstum durch antikoagulämisch wirkende Substanzen zu beeinflussen, wurden erstmals von FISCHER (22) im Jahre 1927 beschrieben, der in vitro eine Hemmung von Tumorzellen nach Gabe von Lebergewebsextrakten beobachtete. Diese Hemmung muß wahrscheinlich auf die Anreicherung von Heparin im Lebergewebe zurückgeführt werden.

1929 beobachtete BLUMENTHAL (8) eine Hemmung der Ausbildung von Transplantattumoren bei Ratten durch Zugabe von Natriumcitrat oder -oxalat (Bindung des Serumcalciums) zu dem die zur Transplantation vorgesehenen Tumorzellen enthaltenden Blut.
In logischer Konsequenz dazu entdeckten GOERNER und SHAFIROFF (30), daß eine geringe Erhöhung des Serumcalciumspiegels bei Tieren eine Aktivierung des Tumorwachstums bewirkte (1928). GOERNER (31) und ZAKRZEWSKI (108) verwandten als erste "reines Heparin" erfolgreich zur Hemmung des Tumorwachstums. Ersterer verhinderte das Wachstum von Transplantattumoren des Flexner-Jobling-Carcinoms der Ratte (1928), letzterer konnte eine Wachstumshemmung bei der Züchtung von Jensensarkomzellen der Ratte in Dauerkulturen unter Zusatz von Heparinplasma als Nährmedium nachweisen (1932).

Von Interesse dürfte sein, daß nicht nur Tumorgewebe höherer Tierspezies eine Wachstumshemmung durch antikoagulatorisch wirkende Substanzen erfährt, sondern auch embryonales, pflanzliches und regenerierendes tierisches Gewebe. So werden zum Beispiel Reinkulturen von Herzfibroblasten und Chondrioblasten aus Hühnerembryonen durch Heparin in ihrem Reifewachstum gehemmt (8, 9 ); so wird die Zellteilung von Chaetopterus-eiern (Caetopterus pergamentaceus, ein Ringelwurm) und von Seeigeleiern (37, 38, 40, 41) durch Heparin und heparinähnliche Substanzen unterdrückt.
Auch das Wachstum von Hefezellen (24) und von pflanzlichem Gewebe (66) kann durch Heparin beziehungsweise durch Cumarinderivate verhindert werden.
Ebenso wird, wie an Kulturen von Normalgewebe gezeigt, die Regeneration von geschädigten Normalgeweben in ihrer Entwicklung negativ beeinflußt (23). Dies gilt jedoch nur für das Wachstum, nicht für die weitere Differenzierung des Normalgewebes (zum Unterschied zu Carcinomzellen,

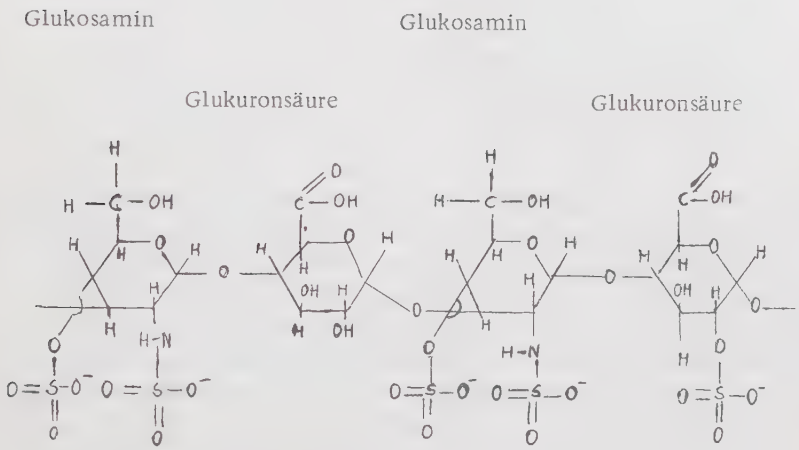
bei denen eine Wachstumshemmung mit einer Hemmung der Zelldifferenzierung und des Malignitätsgrades einhergeht) (108, 109).
Das physiologischerweise vermehrte Auftreten von (heparinähnlichen) Sulfomucopolysacchariden in geschädigtem Gewebe ist aller Wahrscheinlichkeit nach als suppressorischer Effekt auf das Wachstum des sich regenerierenden Gewebes zu deuten (6).
Vollständigkeitshalber muß zu diesen Untersuchungen in den dreissiger Jahren gesagt werden, daß jeweils nur undifferenziertes oder wenig differenziertes Gewebe auf die antikoagulämisch wirkenden Substanzen ansprach.

## II. ARTEN UND PHARMAKOLOGIE DER ANTIKOAGULANTIEN SOWIE ERGEBNISSE IHRER ANWENDUNG

Mit dem Ziele, Wachstum, Metastasierung und Rezidivierung von Malignomen medikamentös zu hemmen oder gar zu verhindern, wurden verschiedene Substanzen untersucht, denen allen der blutgerinnungshemmende Effekt zu eigen ist.

### 1. HEPARIN

ist die auf diesem Gebiet der Tumorforschung am häufigsten verwandte Substanz.
Es handelt sich um ein Sulfomucopolysaccharid, das aufgrund seiner zahlreichen Schwefelsäurereste als stärkste organische Säure des Säugetierorganismus gilt (20).




Tetrasaccharideinheit des Heparins

Außer durch die bereits genannten Autoren (6, 25, 31, 38, 40, 108) wurde sein inhibitorischer Effekt auf Turmorwachstum und -metastasierung inwzwichen durch mehrere Untersucher bestätigt.

So konnten WOOD und Mitarbeiter (104, 105, 106), MUGGLETON (71), wie auch DITTMAR (21) eine Hemmung des Tumorwachstums und eine Verminderung der Metastasenbildung bei mit Heparin vorbehandelten, durch verschiedene Tumorzelltypen cancerisierten Mäusen feststellen. (Wood arbeitete mit Lewis-Carcinom 150, Muggleton mit Landschütz-Ascitestumor und Dittmar mit einem nicht näher genannten Krebsascites-tumor.)

Zum gleichen Ergebnis kam LAWRENCE (58), der eine verminderte Lungen-metastasierung bei Kaninchen beobachtete, die vor der Inokulation von V2-Carcinosarkomzellen heparinisiert wurden. TERRANOVA und CHIOSSONE (100) fanden, daß die Todesrate von Ratten durch Lungen-metastasen nach intravenöser Injektion von Walker-Carcinom-256-Zellen,

bei Vorbehandlung mit Heparin, um mehr als die Hälfte reduziert wurde. LIPPMAN (60) registrierte zwar eine Abnahme des Tumorvolumens von 40 - 50 % bei heparinisierten und mit Ehrlich-Ascites-Tumorzellen (intraperitoneal) behandelten Mäusen, jedoch keine Verlängerung der Überlebenszeit gegenüber den Kontrolltieren.
Dies wird auf die durch Tumornekrosen freiwerdenden toxischen Abbauprodukte zurückgeführt, die die Tiere am Toxinschock zugrunde gehen lassen (107).

Während AGOSTINO und Mitarbeiter (1) eine verminderte Transplantierbarkeit von Walker-Carcinosarkom-256-Zellen von heparinisierten Ratten auf andere Ratten infolge schnellen Verschwindens der Carcinomzellen aus der Blutbahn beobachteten, fand KOIKE (48) einen Anstieg der Tumorzellzahl (Sarkom-37-, Krebs-2-, Ehrlich-Lettré-Diploid- und Ehrlich-Lettré-Tetraploidzellen) im peripheren Blut von heparinisierten Mäusen, wohl infolge ihrer längeren Verweildauer, bei gleichzeitig verminderter Metastasierungsrate.

Zweifelsohne spielt neben dem Zeitpunkt des Beginns der Heparinbehandlung (vor oder nach der Tumorzellinjektion) und der Dosierung des Heparins auch die Dauer der Behandlung eine Rolle.

CLIFFTON und Mitarbeiter (14) fanden bei einmaliger Heparininjektion vor der Inokulation von Walker-Carcinosarkom-256-Zellen in Kaninchen bei 35 % der Versuchstiere Lungenmetastasen gegenüber 65 % bei den Kontrolltieren (Tab. 3). FISHER und FISHER (26) benutzten den gleichen Zelltyp. Die Heparinisierung begann vor der Tumorzellinjektion und dauerte 7 Tage. Nach 14 Tagen hatten 17 % der tumorisierten Tiere Metastasen gegenüber 81 % in der Kontrollgruppe.
Heparin nach der Tumorzelleninjektion gegeben war weniger wirkungsvoll.

Möglicherweise beruht auch der curative Strahleneffekt zu einem großen Teil auf Heparinwirkung, da Heparin nach Bestrahlung vermehrt im Blut nachgewiesen werden kann (38).

## 2. HEPARINOIDE

Bei den Heparinoiden handelt es sich um halbsynthetische Polyschwefelsäureester von Sacchariden mit ebenfalls blutgerinnungshemmendem Effekt, jedoch geringerer therapeutischer Breite. Auch ihnen ist eine inhibitorische

Wirkung auf das Tumorwachstum zu eigen (82).

LANDSBERGER (56) konnte, nach achtwöchiger Behandlung von benzpyrensarkomtragenden weißen Ratten mit Mucopolysaccharidpolyschwefelsäureester (Eleparon) in Kombination mit Dextran (Makrodex), eine Rückbildung des Tumorvolumens feststellen, während bei den Kontrolltieren gleichzeitig ein sehr schnelles Tumorwachstum beobachtet wurde. Bei einem aus diagnostischen Gründen getöteten behandelten Tier konnte in den Tumorresten histologisch keine einzige Geschwulstzelle nachgewiesen werden.

LUDWIG (63) beobachtete eine Senkung der durchschnittlichen primären Rezidivrate bei Patientinnen mit Plattenepithelcarcinom des Collum uteri Stadium II und III der Jahre 1961 bis 1965 (die Rezidive von 1966 wurden noch nicht berücksichtigt) durch Gabe von Depot-Heparinoid während der Strahlenbehandlung, ursprünglich zur Prophylaxe thrombembolischer Komplikationen, um fast auf die Hälfte (9,29 %) gegenüber der Kontrollgruppe (17,99 %), die während der Strahlenbehandlung keine Antikoagulantien bekommen hatte. Das Gesamtkrankengut umfaßte 2278 Fälle

| Jahr | Stadium | Gesamt-Zahl | Primäre Mortalität | Primäre Rezidive | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Antikoagulantien-Gruppe | | Kontrollgruppe | |
| 1960 | II | 218 | 4 1.0 % | ——— | | 61 | 27,9 % |
| | III | 181 | | | | 63 | 34,8 % |
| 1961 | II | 231 | 2 0.4 % | 18 | 7.7 % | 29 | 12.5 % |
| | III | 249 | | 24 | 9.6 % | 56 | 22.6 % |
| 1962 | II | 214 | 7 1.5 % | 23 | 10.7 % | 39 | 18.2 % |
| | III | 256 | | 34 | 13.3 % | 53 | 20.7 % |
| 1963 | II | 206 | 3 0.7 % | 12 | 5.8 % | 40 | 19.4 % |
| | III | 245 | | 23 | 9.4 % | 48 | 19.6 % |
| 1964 | II | 208 | 2 0.4 % | 13 | 6.2 % | 33 | 15.9 % |
| | III | 247 | | 28 | 11.3 % | 51 | 20.6 % |
| 1965 | II | 186 | 9 2.1 % | 9 | 4.8 % | 24 | 12.9 % |
| | III | 236 | | 27 | 11.4 % | 37 | 15.7 % |
| 1966 | II | 176 | 4 0.9 % | | | | |
| | III | 214 | | | | | |

Tab. 1: Übersicht über das Gesamtkrankengut der bestrahlten Plattenepithelcarcinome des Collum uteri Stadium II und III von 1960 bis 1966. Gegenüberstellung der primären Rezidive der mit Antikoagulantien behandelten Patientengruppe und der unbehandelten

(Tab. 1 und 2). (Unter "primärem Rezidiv" sind die Fälle zusammengefaßt, die innerhalb von 18 Monaten nach Beendigung der Strahlentherapie an einem Plattenepithelcarcinomrezidiv im Bereich des kleinen Beckens neu erkrankten.

| Jahr | Stadium | Ges. Zahl | Primäre Mortalität | Primäre Rezidive | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Antikoagulantien-Gruppe | | Kontrollgruppe | |
| 1961 -1965 | II III | 2278 | 23 1,01 % | 211 | 9,29 % | 410 | 17,99 % |

Tab. 2: Prozentuale Anteile der primären Rezidive von mit Antikoagulantien behandelter Gruppe und unbehandelter Kontrollgruppe des Krankenguts mit bestrahltem Plattenepithelcarcinom des Collum uteri Stadium II und III von 1961 bis 1965

## 3. POLYSACCHARIDE

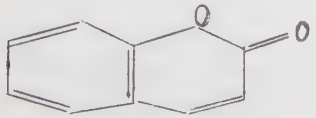
Einige heparinähnliche Polysaccharide geben die für Heparin spezifische positive Toluidinblauprobe und haben ebenfalls eine, wenn auch bedeutend schwächere, antikoagulatorische Wirkung (40).

SHEAR et al. (93) konnten 1943 aus Bacterium serratia marcescens (Bacillus prodigiosus) ein Polysaccharid extrahieren, das eine Tumorrückbildung bei Ratten und Mäusen verursachte bei nur minimaler Schädigung des normalen Gewebes.
BALAZS (6) zeigte, daß auch andere Sulfomucopolysaccharide, wie das Natriumsalz der Agarsäure oder das Calciumsalz der Chondroitinschwefelsäure, im gleichen Sinne wie Heparin, das Wachstum von Embryonalgewebe in vitro bremsen.
Andere Autoren beobachteten im Tierversuch Hämorrhagien und Nekrosen im Tumorgewebe nach Injektion von Polysacchariden bakterieller Genese, die teilweise bis zum völligen Schwund des Tumorgewebes führten (32, 83, 107).

KEIL (47) beschreibt die Wachstumshemmung von transplantierten Mäusesarkomen durch Bayer 205 (Germanin), einer heparinverwandten Polysulfursäure mit blutgerinnungshemmendem Effekt.

## 4. CUMARINDERIVATE

Sie wurden bei den Untersuchungen der Tumorsuppression durch Antikoagulantien neben Heparin am häufigsten verwandt.
Es handelt sich um Naphthochinonabkömmlinge mit Antivitamin-K-Wirkung. Sie besitzen aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit zu Vitamin K eine Affinität zu dem Apoenzym, dessen Coenzym Vitamin K ist (Konkurrenz um das Apoenzym).



Cumarin

Nach Angaben der Autoren die sowohl mit Heparin, als auch mit Cumarinpräparaten zum Zwecke der Beeinflussung des Tumorwachstums gearbeitet haben (13, 14, 68, 104, 105), besteht kein wesentlicher Unterschied zwischen beiden Substanzen. Auch unter dieser Substanz kam es im Tierversuch eindeutig zu einer verminderten Metastasierung und zur Verlängerung der Überlebenszeit der Versuchstiere (21).

CLIFFTON und AGOSTINO (14) konnten mit Warfarin, einem schwach antikoagulämisch wirkenden Oxycumarin, eine Verminderung der Lungenmetastasen bei intravenöser Injektion von Walker-Carcinosarkom-256-Zellen in Kaninchen um 23 % gegenüber den Kontrolltieren erreichen (von den mit Warfarin behandelten Tieren bildeten 41 % Lungenmetastasen, von den unbehandelten Tieren 64 % (Tab. 3).
LACOUR und Mitarbeiter behandelten Ratten, denen sie, sowohl intrahepatisch (51) als auch subcutan (52), Epitheliom-T8-Zellen injizierten, peroral mit Äthyldicumarol.
Auch hier eine eindeutige Verminderung der Metastasenbildung. Allerdings lag die mittlere Überlebenszeit der behandelten Tiere leicht unter der der Kontrolltiere.
Eine Erklärung dafür wäre der von ZAHL (107) beschriebene Toxinschock infolge Anhäufung von Tumorabbauprodukten im tierischen Organismus.

## 5. FIBRINOLYSIN (PLASMIN)

Fibrinolysin, eine Protease, ist ein aktives Umwandlungsprodukt des Plasminogens, das in der Euglobulinfraktion des Blutplasmas vorhanden ist. Zur Umwandlung des Plasminogens in Plasmin (Fibrinolysin) bedarf es eines Aktivators, der Fibrinolysokinase, die sowohl aus bestimmten Gewebszellen, wie Uterusschleimhaut oder Harnwegsepithelien, als "Gewebeaktivator", als auch endovasal als "Blutaktivator" freigesetzt wird.
Aufgabe des Fibrinolysins ist letztlich der Abbau des Fibrins in wasserlösliche Peptide von verschiedener Kettenlänge (62). Die Behandlung der cancerisierten Versuchstiere mit Fibrinolysin zur Hemmung des Tumorwachstums und der Metastasierung ergab gegenüber (anderen) Antikoagulantien die eindeutig besseren Ergebnisse.
Wie auch bei der Anwendung von Heparin und Cumarinderivaten, so war auch beim Fibrinolysin die Verabreichung vor der Tumorzelleninjektion im allgemeinen erfolgreicher als eine nachträgliche, den Blutgerinnungsmechanismus störende Behandlung.
Besonders die Arbeitsgruppe CLIFFTON-AGOSTINO-GROSSI hat sich bei der Untersuchung der Wirkung des Fibrinolysins auf die Tumorzelle verdient gemacht.
Die Behandlung mit Fibrinolysin verursachte eine beträchtliche Verminderung der Metastasenbildung sowohl bei Übertragung von Walker-Carcinosarkom-256-Zellen auf Kaninchen (Tab. 3: 81,5 % der unbehandelten Kontrolltiere bildeten Metastasen gegenüber nur 25 % der mit Fibrinolysin behandelten Tiere) (14), als auch bei V2- und Brown-Pearce-Carcinom des Kaninchens (13).

| Versuchstiere | Gesamtzahl | Metastasen | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ja | nein | % positiv |
| Kontrolle | 103 | 82 | 21 | 81,5 |
| Fibrinolysin | 113 | 28 | 85 | 25 |
| Kontrolle | 104 | 64 | 40 | 65 |
| Heparin | 101 | 34 | 67 | 35 |
| Kontrolle | 122 | 78 | 44 | 64 |
| Warfarin | 119 | 49 | 70 | 41 |

Tab. 3: Vergleichende Untersuchung über die Bildung von Lungenmetastasen bei Behandlung mit Antikoagulantien von Cliffton und Agostino (Cancer 15: 279, 1962, Aus-

GROSSI et al. (33) erreichten eine Verminderung der Lungenmetastasierung von 25 % bei durch Walker-Carcinosarkom-256-Zellen cancerisierten Ratten durch Vorbehandlung mit Humanfibrinolysin. Lebermetastasen traten überhaupt nicht auf.
Die Humanfibrinolysinapplikation kurz vor der Verabreichung der Carcinomzellensuspension wirkte sich nicht auf die Zahl der im peripheren Blut vorhandenen Tumorzellen aus, jedoch war die Transplantierbarkeit der Tumorzellen eindeutig geringer (34).

### 6. GERINNUNGSHEMMENDE FARBSTOFFE

Der Vollständigkeit halber muß noch erwähnt werden, daß auch einigen Farbstoffen mit blutgerinnungshemmender Wirkung eine Inhibierung der Zellteilung und damit des Gewebewachstums möglich ist (84, 103).

## III. WIRKUNGSMECHANISMEN UND ANGRIFFSPUNKTE DER ANTIKOAGULANTIEN AN DER CARCINOMZELLE

In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen mit Antikoagulantien haben eine eindeutige Hemmwirkung auf Carcinomwachstum, Metastasierung und Rezidivierung aufgezeigt.
So wenig jedoch wie der biochemische, beziehungsweise biophysikalische Mechanismus der Heparinwirkung auf die Blutgerinnung bis ins einzelne geklärt ist, ebensowenig ist der Wirkungsmechanismus der antikoagulämisch wirkenden Substanzen am Carcinom genau bekannt.
Entsprechend vielfältig sind auch die Theorien und Spekulationen über den Ablauf dieser Hemmwirkung der Antikoagulantien auf malignes Tumorgewebe.

### 1. HEMMUNG DER ZELLTEILUNG

#### a. HEMMUNG DER MITOTISCHEN SPINDELBILDUNG

Nach HEILBRUNN und Mitarbeitern (36, 37) geht bei der Zellteilung der Spindelbildung (Mitose) die (prae-) mitotische Gelierung des Protoplasmas voraus (Kolloidaltheorie).

Diese mitotische Gelierung stellt einen ähnlichen Gerinnungstypus dar, wie die Blutgerinnung der Vertebraten.
Eine Beeinflussung der protoplasmatischen Viskosität würde einer Beeinflussung der Zellteilung gleichkommen.
So war es in Versuchen in vitro möglich, durch Heparin, heparinähnliche Substanzen und Cumarinderivate (Dicumarole) die Zellteilung durch Hemmung der prämitotischen Gelbildung zu verhindern und analog dazu die Mitose durch synthetisches Vitamin K (2-Methyl-1,4-Naphthochinon) zu beschleunigen (39, 40, 41).
Eine direkte Wirkung der Antikoagulantien auf die Multiplizierung der Krebszelle im Sinne einer Unterdrückung der Mitose wird auch von LACOUR und Mitarbeitern (32), LIPPMAN (60) und BALAZS et al. (6) angenommen.

b. HEMMUNG DES INTRACELLULÄREN RIBONUKLEINSÄUREUMSATZES

Mehrere Autoren beobachteten unabhängig voneinander eine Hemmung der Ribonuklease durch Heparin in vivo und in vitro, d.h., des den Ribonukleinsäureumsatz steuernden Enzyms und damit eine Anhäufung von Ribonukleinsäure im Cytoplasma (54, 81, 85, 110).
Nach de LAMIRANDE und Mitarbeitern (55) handelt es sich in vivo wahrscheinlich um die Bildung eines Enzym-Heparin-Komplexes anstelle des normalen Enzym-Substrat-Komplexes mit Riboneukleinsäure (kompetitive Hemmung).
Nach ZÖLLNER und FELLIG (110) zeigten andere hochpolymere saure Polysaccharide, wie die Chondroitinschwefelsäure, Hyaluronsäure oder Alginsäure diesen Enzymhemmeffekt nicht. Er wird also durch die spezifische Struktureigentümlichkeit des Heparins hervorgerufen und ist reversibel.
Eine Hemmung der Ribonuklease, die für die Steuerung der Reaktion der Ribonukleinsäure und somit der Proteinsynthese verantwortlich ist, bedeutet einen störenden Eingriff in den Nukleoproteidmetabolismus und somit in den Eiweißstoffwechsel der Zelle.
Eine Hemmung der Zellmitosen durch Heparin fände so eine einleuchtende Erklärung.

c. VERSCHIEBUNG DES POLYELEKTROLYTGLEICHGEWICHTS DER ZELLE

ANDERSON (3) meint, daß der inhibitorische Effekt der sauren Polysaccharide, wie des Heparins und strukturverwandter Substanzen, auf die Zellteilung wahrscheinlich auf ihrem Polyanioneneffekt beruht, d.h., auf ihrer stark elektronegativen Ladung.
Sie könnten sich mit den basischen, positiv geladenen Substanzen der Zelle verbinden und damit integrierend in die Zellteilung eingreifen.

2. HEMMUNG VON WACHSTUMSSTIMULATOREN DER KREBSZELLE

ZAKRZEWSKI (108) führt die Wachstumshemmung von malignen und Normalgeweben durch Heparin auf eine Inaktivierung von zellständigen "Wachstumsstimulatoren" zurück, die schon physiologischerweise eine Hemmung im Normalgewebe durch körpereigenes Heparin ("physiologischer Bremsfaktor") erfahren und, die in der Geschwulstzelle zur Anregung der Proliferation vermehrt auftreten.
Auch BALAZS und HOLMGREN (6) diskutieren die Möglichkeit eines neutralisierenden Effekts von Antikoagulantien auf die dem ursprünglichen und malignen Gewebe eigene "wachstumsfördernde Substanz".

3. CARCINOMANTIKÖRPERKOMPLEMENTHEMMUNG

Einen sehr interessanten, wenn auch stark umstrittenen Aspekt zeigt DITTMAR auf (21). Seiner Meinung nach induziert das menschliche und tierische Carcinom polyvalente Antikörper, die aufgrund ihrer Ausschwemmung von Cytotoxinen cytolytisch und lebensverkürzend wirken.
Durch Hemmung des Komplements dieses komplexen cytolytischen Antikörpers mit Heparin oder Cumarinderivaten konnten im Experiment die Antikörper ihres zweiteiligen Charakters beraubt und zu einfachen, nur noch immunisierenden Antikörpern umgewandelt werden (Immunserumtherapie des Krebses). Es wurde dabei eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit der Versuchstiere und, infolge der tumorwachstumshemmenden Eigenschaften der Immunantikörper, eine Persistenz des Wachstums und der Reifung von malignen Geschwülsten festgestellt.
(Derartige Antikörperkomplementhemmer stellen auch Hefe und Copragift dar.)

## 4. BILDUNG VON HÄMORRHAGISCHEN TUMORNEKROSEN

Die von mehreren Autoren beschriebene (93, 94, 95) und schon früher erwähnte (S. 12) Bildung von hämorrhagischen Tumornekrosen durch Verabreichung antikoagulämisch wirkender Substanzen, die bis zum völligen Schwund des Tumors führen kann (32, 91, 107), dürfte wohl eine einleuchtende, jedoch auch sehr unbefriedigende und nur als Nebenbefund verwertbare Erklärung sein.

## 5. HEMMUNG DER GEWEBSHYALURONIDASE

BALAZS und HOLMGREN (6) zeigten, daß in traumatisiertem Gewebe vermehrt Hyaluronsäure und andere Sulfomucopolysaccharide auftreten, wo sie wahrscheinlich einen suppressorischen Effekt auf das Wachstum des sich regenerierenden Gewebes ausüben.
Bei bösartigen, infiltrierend wachsenden Tumoren muß man eine erhöhte Hyaluronidaseaktivität annehmen, da sie eine normale Bindegewebsentwicklung in ihrer unmittelbaren Umgebung verhindern (92). Es erfolgt sogar ein partieller Abbau, eine Depolimerisation, der sogenannten Mesenchymsubstanzen (28), d.h., der makromolekularen Mucoproteide (stickstoffhaltige Polysaccharide), wie zum Beispiel der Hyaluronsäurepolymerisate (Mucinolyse).
Nach KEIL (47) stellen Antikoagulantien wirksame Hyaluronidaseinhibitoren dar, die durch Hemmung des "spreading factor" die Tumorinfiltration reduzieren.

Diese Möglichkeit der Erhöhung der Gewebspolymerisation dürfte allerdings kaum zu einer Verminderung der Disposition zur Tumorentwicklung führen, ist doch gerade im Alter, wie die Statistik zeigt, bei zunehmendem Polymerisationsgrad des Gewebes (47, 92) die Krebsgefährdung besonders hoch, wahrscheinlich durch altersbedingte Zunahme der gerinnungsfördernden Faktoren (Instabilität der Bluteiweißkolloide). Wiederum zeigt die Statistik auch, daß Wachstumsgeschwindigkeit, Infiltration und Metastasierung von Tumoren mit zunehmendem Alter abnehmen, was wieder für eine geringere Tumorentwicklung bei höherem Polymerisationsgrad des Gewebes sprechen würde.

## IV. NEUERE ERKENNTNISSE ÜBER GERINNUNGSSPEZIFISCHE EIGENSCHAFTEN VON TUMOREN UND TUMORZELLEN

In den Untersuchungen der letzten 10 Jahre auf diesem Gebiet der Krebsforschung traten mehr die gerinnungsspezifischen Eigenschaften der Tumoren in den Vordergrund.
Man konnte dabei auf schon weit zurückliegende Untersuchungen von SCHMIDT (88), RUSSEL (86) und IWASAKI (46) Bezug nehmen. Im Jahre 1903 beobachtete SCHMIDT an einem größeren Autopsiegut von Malignomträgern, daß sich in den Lungenkapillaren und den kleineren Lungenarterien am Endothel haftende Thromben bildeten, bestehend aus Carcinomzellen und fädigem Fibrin. Teilweise konnte er zwischen den Krebszellen des Thrombus eine Netzbildung durch Fibrin feststellen.
RUSSEL beschrieb im Jahre 1908 eine Fibrinablagerung zwischen Transplantattumoren und Wirtsgewebe bei Versuchstieren.
Was so Anfang des 20. Jahrhunderts gefunden wurde, konnte 50 Jahre später bestätigt und auch auf ortsständige menschliche und tierische Geschwülste übertragen werden.

### 1. FIBRINIERUNG VON TUMOREN

O'MEARA und JACKSON (72) begannen 1958 die Tumorzellen an der Peripherie von bösartigen Geschwülsten genauer hinsichtlich Fibrinablagerung zu untersuchen, da von ihnen, ihrer Meinung nach, das invasive Tumorwachstum ausgeht. Diese peripheren Tumorzellen waren umhüllt von feinen, netzartig angeordneten Fibrinfäden, wie auf histologischen Schnitten mit Fibrinfärbung nachgewiesen werden konnte.
Dieses Fibrin wird laufend an der Oberfläche von Tumorzellen, vorwiegend der Tumorperipherie abgelagert und wirkt als Stimulus für die mesodermalen Zellen, d.h., es kommt durch Organisation des Fibrins zur Bildung von Granulationsgewebe (Bindegewebsproliferation und Vaskularisation). Dieses Granulationsgewebe in der Tumorperipherie stellt das neue Stroma des infiltrierenden Tumors dar, in das er nun unter Wahrung seiner Autonomie hineinwächst (74, 75).
Meist ist Fibrin auch im Innern, besonders in Tumornekrosen, nachweisbar.

O'MEARA und Mitarbeiter benutzten als Tumormaterial vor allem das Plattenepithelcarcinom der Haut und das Mammacarcinom. Beim Mamma-

carcinom ist die Fibrinbildung noch begünstigt durch meist auftretende Mikrohämorrhagien am Tumorrand, durch die reichlich fibrinogenreiches Plasma herangeführt wird.
Mehrere Autoren konnten den Befund der Fibrinablagerung vorwiegend im Tumorrandgebiet, sowohl beim menschlichen als auch beim tierischen Malignom bestätigen.
So fand LUDWIG (63) auf histologischen Schnitten mit spezieller Fibrinfärbung (Mallory-Lendrum-Ladewig-Färbung) beim Plattenepithelcarcinom des Collum uteri breite Fibrinsäume in der Umgebung der Tumorzellzapfen, sowie in der dem Tumor zugewandten Seite der umgebenden Kapillaren der terminalen Strombahn.
HIRAMOTO (43) zeigte am histologischen Fluoreszenzpräparat eine extravaskuläre Ablagerung von Fibrinklümpchen in spontanen menschlichen Tumoren. Das gleiche beobachtete er am Murphy-Sturm-Lymphosarkom der Ratte (42).
Mehrere Autoren wiesen eine Fibrinablagerung in tierischen Transplantattumoren mit Hilfe von Immunfluoreszenz und Radioisotopentechnik nach (5, 7, 18).
Bei Doppelmarkierung von Fibrin ($J^{131}$) und Plasmin ($J^{125}$) konnten BACK und Mitarbeiter (5) ein korrelierendes Verhalten bei der Aufnahme beider Substanzen durch den Tumor feststellen und folgerten, daß die bei der Fibrinolyse anfallenden Peptide als Nährstoffe des Tumormetabolismus Verwendung finden könnten.

Als beweisend für eine Fibrinablagerung im Tumor müssen auch die Versuche der Arbeitsgruppen um BALE und DAY angesehen werden, die bei verschiedenen tierischen Transplantat- und Spontantumoren eine Konzentration von $J^{131}$-markierten Antifibrin-Antikörpern im Tumor feststellten. Als deren Folge trat beim Murphy-Sturm-Lymphosarkom der Ratte eine schnelle und permanente Tumorrückbildung auf (7, 18, 96, 97).

DAY und Mitarbeiter (19, 20) deuteten eine anfängliche Ablagerung von Fibrin im Tumortransplantatbett bei Rattentumoren, die von entzündlicher Reaktion begleitet war, als initiale Fremdkörperreaktion. Ihr folgte eine zweite Periode der Fibrinpräzipitation, die von einer Vaskularisation des wachsenden Tumors begleitet wurde.
Bei Nachlassen des Tumorwachstums wurde gleichzeitig eine verminderte Fibrineinlagerung festgestellt. Der Verbrauch von Fibrinogen durch den Tumor ist gefolgt von einer gesteigerten Fibrinogenproduktion durch die Leber und damit einer Erhöhung des Fibrinogenspiegels im Blut von Tumor-

## 2. FIBRINIERUNG VON TUMORZELLTHROMBEN BEI DER METASTASIERUNG

Zum Unterschied zu den Primärtumoren wachsen die Sekundärtumoren (Metastasen) nicht in primär cancerösem Gewebe, sondern sie entwickeln sich im differenzierten Normalgewebe. Neben anderen, später zu besprechenden Eigenschaften der Tumorzellen, scheint auch bei der Metastasierung, d.h., der Ausschwemmung von Tumorzellen in die Blut- oder Lymphbahn und ihre Absiedelung im Gewebe, die von verschiedenen Autoren beschriebene Bildung eines Tumorzellenthrombus und dessen Fibrinierung, im Sinne einer Netzbildung aus Fibrin oder fibrinähnlichem Material, eine Rolle zu spielen (46, 87, 88, 102).
WOOD (106), - später auch GASTPAR und Mitarbeiter (27) -, konnte erstmals im Jahre 1958 den Ablauf der Bildung einer hämatogenen Tochtergeschwulst durch Absiedelung von Carcinomzellen intravitalkinematographisch festhalten. (Es wurden V2-Carcinomzellen in die Arterie auricularis des Kaninchens injiziert und durch ein Glasfenster beobachtet.)
Er registrierte als erstes eine von Ort, Kapillardurchmesser, vasomotorischer Aktivität und Blutstromgeschwindigkeit unabhängige Adhärenz der im Blut beförderten Tumorzellen am nicht vorgeschädigten Kapillarendothel. Es folgte eine intravaskuläre Thrombusbildung aus fibrinähnlichem Material, Leukocyten und Blutplättchen um die adhärenten Tumorzellen herum.
In der Folge traten Gefäßwandschädigung und Auswanderung von Tumorzellen in das umgebende Gewebe (nach 3 Stunden) und beginnendes Tumorwachstum (nach 6 Stunden) auf.

Unzweifelhaft spielt die Fibrinierung für die Unterhaltung des Tumorzellenthrombus bis zur Invasion der Tumorzellen in das perivaskuläre Gewebe eine Rolle (33), vielleicht auch bei der Einwanderung selbst, als Leitschiene im Sinne der Betrachtungen von O'MEARA.
Sicherlich ist auch ein erhöhter Fibrinogenspiegel des Blutes fur die Metastasierung von Bedeutung (2).
Zum anderen könnte bei Krebspatienten eine durch höhere Fibrinogenkonzentrationen hervorgerufene Zunahme der Thrombocytenadhäsivität, wie im Modellversuch gezeigt wurde (67), ein wesentlicher Faktor für die Tumorzellenthrombose sein.

## 3. VERMINDERUNG DER FIBRINOLYTISCHEN AKTIVITÄT

Die fibrinolytische Aktivität des endovasalen Systems oder eines bestimmten Gewebes (lokale fibrinolytische Aktivität) sagt etwas aus über die Wirkungsfähigkeit des fibrinolytischen Systems und findet letztlich ihren Ausdruck in der Auflösung von Fibrin zu Fibrinopeptiden unter Einwirkung des aktiven, fibrinolytischen Enzyms Fibrinolysin (Plasmin).
Dazu bedarf es verschiedener Aktivatoren, der Gewebe und/oder der Blutaktivatoren, die wahrscheinlich durch Reaktion von Fibrino-Lysokinasen mit Proaktivatoren gebildet werden. Im Experiment wird die fibrinolytische Aktivität auf der nativen oder Hitzefibrinplatte geprüft.

O'MEARA (73) fand bei seinen Untersuchungen eine verminderte, beziehungsweise fehlende fibrinolytische Aktivität zahlreicher Carcinome im Vergleich zum normalen Muttergewebe. Daher hat Fibrin, das unter dem Einfluß gerinnungsfördernder Faktoren in oder in der Nähe der Carcinome entsteht, größere Aussicht bestehen zu bleiben, beziehungsweise zu entstehen.
CLIFFTON und GROSSI (12) beobachteten eine niedrige Plasminogenaktivatorenaktivierung und damit niedrige fibrinolytische Aktivität beim Plattenepithelcarcinom, jedoch variable Größen bei anderen Tumoren.
Einen Ausdruck der Höhe der fibrinolytischen Aktivität von Carcinomen sieht SCHMIDT-MATTHIESEN (89) in der sehr unterschiedlichen Art des Tumorwachstums: Hohe fibrinolytische Aktivität bedeutet endophytisches Wachstum durch sofortige lytische Beseitigung von Fibrininsudationen. Dadurch wird dem Tumorgewebe der Stimulus zur produktiv-proliferativen Reaktion entzogen. Niedrige oder keine fibrinolytische Aktivität führt zu exophytischem Tumorwachstum. Durch Anregung der Proliferation findet eine ausgeprägte, produktive Bindegewebsentwicklung statt.
CASH (69) fand im menschlichen Uterus große Mengen des Profibrinolysinaktivators, dem man nach O'MEARA eventuell das verlangsamte, infiltrative Wachstum des Collumcarcinoms in das Corpus uteri zuschreiben könnte.

## 4. GERINNUNGSFÖRDERNDE AKTIVITÄT

Wie die Fibrinierung und die Verminderung der fibrinolytischen Aktivität nicht zu unterschätzende Eigenschaften von Tumoren und Tumorzellen, beziehungsweise Tumorzellenthrombosen sind, so spielen sicherlich auch noch andere koagulierende Eigenschaften beim Tumorwachstum und vor

allem bei der Metastasierung eine große Rolle.

a. ERHÖHTE THROMBOPLASTISCHE AKTIVITÄT

Die thromboplastische Aktivität von Zellen, eines Gewebes oder des Blutes ist ein Gradmesser für die Wirksamkeit der Gerinnungsvorgänge im Organismus. Sie bewirkt letztlich durch Freisetzung von Thromboplastin, in Form von Gewebs- (extrinsic system) oder Plasmathromboplastin (intrinsic system), die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin und damit eine Förderung der Polymerisationsvorgänge im Organismus.
Im normalen Gewebe besteht eine ausgeglichene Korrelation zwischen thromboplastischer und fibrinolytischer Aktivität. Im Tumorgewebe ist dieses Gleichgewicht meist zugunsten der thromboplastischen Aktivität verschoben.

Sie muß nach WOOD (106) bei der Adhärenz der Tumorzellen am Gefäßendothel vor der Thrombosierung, als einer Stufe der Metastasierung, unbedingt mit berücksichtigt werden.
WOOD arbeitete mit V2-Carcinomzellen, die eine besonders hohe thromboplastische Aktivität besitzen (13, 58).
KOIKE (48) zweifelt den unmittelbaren Zusammenhang zwischen thromboplastischer Aktivität und Tumorzellenthrombosierung an. Er untersuchte die Ansiedlung und das Wachstum von Tumorzellen bei vier verschiedenen Tumoren (Ehrlich-Lettré-Diploid, Ehrlich-Lettré-Tetraploid, Krebs 2 und Sarkom 37) in der Lunge und fand, daß sich Tumorzellen mit hoher thromboplastischer Aktivität (Ehrlich-Lettré-Diploid) weniger in der Lunge ansiedelten als solche mit geringerer thromboplastischer Aktivität (Ehrlich-Lettré-Tetraploid und Krebs 2).
Eine sehr unterschiedliche thromboplastische Aktivität (Thrombokinaseaktivität) von Tumoren im Vergleich zu gesundem Muttergewebe registrierte MARX (67). Bei 18 menschlichen Tumoren verschiedener Struktur beobachtete er in 9 Fällen eine höhere, in 8 Fällen eine niedrigere und in 1 Fall die gleiche thromboplastische Aktivität wie im gesunden Muttergewebe anderer Individuen.

b. BILDUNG DES "CANCER COAGULATIVE FACTOR" (CCF)

O'MEARA und Mitarbeiter isolierten aus Carcinomgewebe einen Faktor, der in der Lage ist, Plasma zur Gerinnung zu bringen, und dessen Freisetzung, nach ihrer Ansicht für die Bildung von Fibrin aus Fibrinogen unerläßlich ist.

Die intravenöse Injektion eines diesem Krebs-Koagulierungsfaktor gleichwertigen Extrakts aus menschlichem Chorion bei Mäusen verursachte innerhalb von 5 Minuten den Tod der Tiere durch Bildung multipler Thrombemboli in den Pulmonalarterien (29).
Die Analyse des CCF (9, 10, 11, 35) ergab ein makromolekulares, stickstoffarmes Lipoproteid mit hoher thermolabiler Aktivität, bestehend aus 4 Komponenten.
Der Faktor ist unter die Gewebethromboplastine einzureihen (Faktor III), ohne mit den bisher bekannten identisch zu sein.
Seine zelluläre Lokalisation ist wahrscheinlich das endoplasmatische Retikulum oder die Mikrosomen.
Der CCF diffundiert aus den Tumorzellen in das pericanceröse Gewebe, wo es durch seine Anwesenheit zum Fibrinniederschlag kommt (78). Dadurch wird dann das auf Seite 19 beschriebene invasive Wachstum eingeleitet, bei dem das Fibringespinst als Gerüst für die proliferativen Zell- und Kapillarsprossungen dient.
Der Nachweis dieses koagulierenden Faktors im präinvasiven Carcinom der Haut läßt den Schluß zu, daß seine Bildung und Diffusion dem invasiven Wachstum von Carcinomen vorausgeht (80).

### c. BEDEUTUNG DER "CANCER CELL STICKINESS" (CARCINOMZELLEN-KLEBRIGKEIT)

Eine wichtige Rolle bei der Haftung der Zelle am Gefäßendothel scheint ihre "Klebrigkeit" (cancer cell stickiness) zu spielen, ein von COMAN (16) geprägter Begriff, der die Neigung der Zellen, sich, aufgrund ihrer physikochemischen Affinität an ein fremdes Substrat zu klammern, beinhaltet.
Als Antagonist dazu agiert die Adhäsivität der Zelle als die Kraft, die der mechanischen Teilung von zwei aneinandergehefteten, gleichwertigen Zellen Widerstand leistet. Sie wird wahrscheinlich durch intercelluläre Calcium-Brückenbindung hervorgerufen.
Die Klebrigkeit der Zelle erfordert die Anwesenheit von Polysacchariden, Mucinen oder Lipiden an der Zelloberfläche, die eine zähe Hülle um die Zelle bilden. Ihre sauren Gruppen (Carboxyl-, Hydroxyl- oder Sulfatgruppen) binden die zur intercellulären Brückenbindung bereitgestellten Calciumionen und vermindern somit die Zelladhäsivität (15, 61).
Eine verminderte Zelladhäsivität (nach obiger Definition) kommt einer größeren Motilität und vermehrtem Invasionsvermögen der Carcinomzelle gleich (16, 44).

Erhöhte Klebrigkeit bedeutet vermehrte Haftung und Ansiedlung an verschiedenen Orten, - Faktoren, die für die Carcinomzelle zutreffen und für ihr Wachstum vor allem aber für ihre Metastasierung Bedeutung haben.

KOJIMA (49) konnte durch Messung der Zellklebrigkeit von 3 Stämmen des Ascitesheptoms der Ratte (AH 13, AH 20 und AH 7974) an der Glasplatte bestätigen, daß der Tumor mit der größten Klebrigkeit auch die höchste Metastasierungsrate aufweist.
Die Klebrigkeit war pH-abhängig, d.h., Abnahme im sauren und Zunahme im alkalischen Milieu.
KOIKE (48), der für diese beiden Begriffe die Bezeichnung "Allokollektizität" (Klebrigkeit) und "Isokollektizität" (Adhäsivität) vorschlägt, fand eine von Tumor zu Tumor sehr unterschiedliche Tumorzellenklebrigkeit ohne jegliche Beziehung zur Metastasierungsquote.

### 5. VERMINDERUNG DES HEPARIN-COFAKTORS

TEMPERLEY (99) hat festgestellt, daß der schon seit langem bekannte Heparin-Cofaktor, ein hitzelabiles, serumständiges Protein, das die Antithrombinwirkung des Heparins stark erhöht, bei malignen Erkrankungen vermindert ist. (Eine Ausnahme bilden die Patienten, die gleichzeitig an Ikterus leiden. Bei ihnen ist der Heparin-Cofaktor erhöht.)
Dieser Faktor muß bei den unterschiedlichen Ergebnissen der Tumorwachstums- und metastasierungshemmung durch Heparin unbedingt berücksichtigt werden und gibt wahrscheinlich für manchen Versuchsmißerfolg eine Erklärung.

## V. BEEINFLUSSUNG DER GERINNUNGSSPEZIFISCHEN EIGENSCHAFTEN DES TUMORS UND SEINER ZELLEN DURCH ANTIKOAGULANTIEN

Unter Berücksichtigung der Annahme, daß verminderte fibrinolytische Aktivität, erhöhte thromboplastische Aktivität, Fibrinierung, Bildung eines Carcinom-Koagulierungsfaktors (cancer coagulative factor) und Carcinomzellen-Klebrigkeit (cancer cell stickiness, Allokollektizität) eine wesentliche Rolle bei Wachstum, Infiltration und Metastasierung von malignen Geschwülsten spielen, muß man die Wirkung der Antikoagulantien

(Heparin, Heparinoide, Cumarinderivate und Fibrinolytica) folgendermaßen deuten:

1. Hemmung der Fibrinbildung durch alle Arten von Antikoagulantien und Aktivierung der Fibrinolyse durch Fibrinolytica (Plasmin, Streptokinase, Urokinase), sowie durch Heparin und Heparinoide in geringerem Maße (47, 62, 63, 78, 79).

2. Verminderung der thromboplastischen Aktivität durch die Antithromboplastin-, Antithrombin- und Antiprothrombinwirkung des Heparins und der Heparinoide (62).

3. Verminderung der Carcinomzellenklebrigkeit (cancer cell stickiness), die der Thromboplastinwirkung wahrscheinlich sehr nahe steht, durch Antikoagulantien bedeutet eine Herabsetzung der Haftfähigkeit der Tumorzelle am Gefäßendothel und eine Verminderung der Bildung von Tumorzellenthromben (16, 26, 49, 52, 106).

4. Neutralisation, beziehungsweise Zerstörung des Carcinom-Koagulierungsfaktors (cancer coagulative factor) durch Antikoagulantien und dadurch Hemmung der Fibrinfreisetzung (29, 76, 77, 78, 79, 101).

Eine verminderte Klebrigkeit der Tumorzelle (Haftfähigkeit am Gefäßendothel) würde zusätzlich bedeuten, daß die Tumorzellen länger in der Blutbahn verbleiben und somit einer gleichzeitigen cytostatischen Therapie stärker ausgesetzt sind (26).
Eine Verhinderung der Fibrinierung, beziehungsweise eine Fibrinolyse in der Umgebung des destruierend wachsenden Tumors bedeutet eine Verbesserung der Durchblutung, die wiederum durch ihre positive Wirkung auf die Mitoserate eine erhöhte Strahlensensibilität des Tumors und somit eine verbesserte Reaktion auf eine Strahlenbehandlung nach sich ziehen würde (63).

## VI. EIGENE UNTERSUCHUNGEN ÜBER FIBRINBILDUNG BEIM ADENOCARCINOM DES CORPUS UTERI

### 1. MATERIAL

25 Fälle von Adenocarcinomen des Corpus uteri wurden histologisch hinsichtlich Menge und Lokalisation von Fibrinvorkommen ausgewertet. Dabei wurden Resektionspräparate verwandt, die von abdominalen Uterusexstirpationen aus dem Jahre 1966 stammen.
Die betroffenen Patientinnen wurden vor der Operation weder bestrahlt noch mit Antikoagulantien behandelt.
Das Alter der Patientinnen liegt zwischen 40 und 80 Jahren. Dabei beträgt die prozentuale Altersverteilung der Carcinomträgerinnen (Abb. 1):

| | |
|---|---|
| 40. - 50. Lebensjahr: | 17 % |
| 50. - 60. Lebensjahr: | 31 % |
| 60. - 70. Lebensjahr: | 48 % |
| 70. - 80. Lebensjahr: | 4 % |

Unter den 25 Patientinnen befanden sich 4 noch menstruierende Frauen.

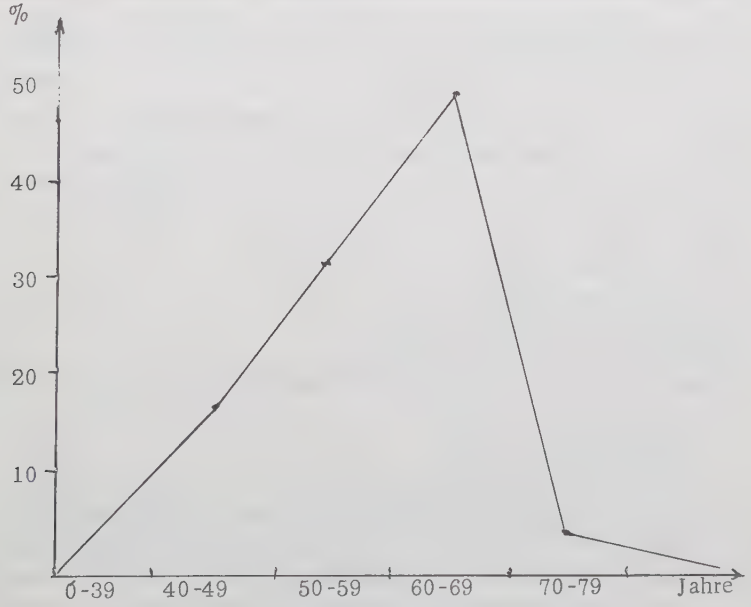



Abb. 1: Prozentuale Altersverteilung bei 25 Fällen von Adenocarcinom des Corpus uteri

Morphologisch handelt es sich um exo- und endophytisch wachsende Adenocarcinome mit mehr oder weniger ausgeprägter Zelldifferenzierung, teils mehr papillär gebaut, teils mehr einem soliden Carcinom entsprechend.

Die Fibrinvorkommen beim Adenocarcinom des Corpus uteri wurden mit denen verschiedener anderer Carcinome der Frau verglichen, so dem Plattenepithelcarcinom des Collum uteri, dem Adenocarcinom der Mamma und dem Adenocarcinom des Rectum.

## 2. METHODIK

Die extra- und intravasalen Fibrinniederschläge wurden durch eine von LADEWIG (53) beschriebene Färbung im histologischen Schnitt dargestellt, die sie leuchtend zinnoberrot erscheinen läßt.
Es handelt sich hierbei um eine Abänderung der Mallory- (Anilinblau-Goldorange-Färbung)- Heidenhainschen- (Azanfärbung)- Methode mit einer Modifikation nach LENDRUM (17, 60).

Technik der Mallory-Lendrum-Ladewig-Färbung:

a. Paraffinschnitte von etwa 4 µ Dicke werden in gewohnter Weise durch Xylol und absteigende Alkoholreihe gebracht.

b. Sodann kommen sie für 10 Minuten in Weigertsches Eisenhämatoxylin (Herstellung durch Zusammengiessen von Lösung A (1 g Hämatoxylin in 100 ccm 96%igem Alkohol) und Lösung B (4 ccm Liquor ferri sesquichlorati, 1 ccm offizinelle Salzsäure, 95 ccm Aqua dest.)).

c. Abspülen in Aqua dest.
Differenzieren in 1%igem HCl-Alkohol.
Abspülen in Aqua dest. für 10 Minuten.

d. Übertragen der Präparate in 5%ige Phosphor-Wolframsäure für 1 - 3 Minuten.

e. Kurzes Abspülen in Aqua dest.

f. Einbringen in Anilinblau-Säurefuchsin-Goldorange-Lösung für 4 Minuten (Herstellung der Farblösung: In 100 ccm Original-Mallory-Lösung (0,5 g wasserlösliches Anilinblau und 2 g Goldorange werden in 100 ccm Aqua dest. gelöst danach 8 ccm Eisessig zugefügt, die Mischung gekocht und

nach dem Erkalten filtriert) wird 1 g Säurefuchsin (Rubin S) kurz aufgekocht und die Lösung nach Erkalten filtriert).

g. Sehr kurzes Abspülen in Aqua dest.

h. Von dort direkt in 96 %igen Alkohol für eine Minute.

i. Zum Schluß in absoluten Alkohol, Xylol und Eindecken.

Ergebnis:

Fibrin leuchtend zinnoberrot. Kerne dunkelbraun. Bindegewebe blau über blauviolett, rotviolett bis karminrot (je nach Beschaffenheit und Struktur). Parenchym graublau oder graubraun. Nervengewebe desgleichen. Muskulatur braunrot. Erythrocyten hellorange. Schleim und Sekrete blau. Amyloid glasig hellblau. Kolloid (je nach Grad der Eindickung) violett bis rot. Kalk amorph rot. Eleidin orange.
Horn rot. Übergangssubstanz violett. Keratohyalin schwarzbraun.

## 3. ERGEBNISSE

Bei einem Querschnitt durch 25 Fälle von verschieden gebauten und differenzierten Adenocarcinomen des Corpus uteri bei Frauen verschiedener Altersklassen (40. bis 80. Lebensjahr) und Hormonlage, fanden sich so gut wie keine Fibrinniederschläge im Tumorgebiet, weder extra- noch intravasal.

### a. Intravasales Fibrin:

Ganz vereinzelt findet man intravasale Fibrinausgüsse in wenigen carcinomeigenen Kapillaren des die Drüsenschläuche umgebenden Bindegewebes, zumeist in Nähe der Grenze zwischen Tumor und normalem Gewebe. An dieser Grenzzone kann man auch vereinzelt die Bildung von Tumorzellenthromben nachweisen, die von einem feinen Fibrinnetzwerk durchzogen sind. Zum Teil wirkt das Fibrin vermittelnd zwischen den Tumorzellen des Thrombus und dem Kapillarendothel. Auffällig ist, daß das Fibrin nicht homogen dicht abgelagert ist, sondern eher wolkig aufgelockert.
In den Kapillaren des an den Tumor angrenzenden, vom Tumor noch nicht infiltrierten Gewebes wird das Fibrinvorkommen in Form von Kapillarausgüssen wieder etwas reichlicher.

b. Extravasales Fibrin:

Wenig tumorständiges extravasales Fibrin wird dort gefunden, wo Tumorzellverbände von ihrer Unterlage abgelöst sind ("sequestrierender Tumor"). Es wird dann eine Fibrinhülle um die Tumorzelleninseln gebildet. Auffällig ist auch hier die hochgradige wolkige Auflockerung dieser extravasalen Fibrinhüllen.
Etwas mehr extravasales Fibrin findet man extratumoral an den operationsbedingten Wundflächen, an den endometrialen, nicht durch Tumor durchsetzten Abrasionswundflächen (bei vorausgegangener diagnostischer Curettage) und um die größeren Gefäße des noch nicht durch Carcinom infiltrierten, dem Tumor benachbarten glatten Muskelgewebe (Myometrium).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß beim Adenocarcinom des Corpus uteri, mit wenigen Ausnahmen, keine intratumoralen Fibrindepots vorhanden sind. Bei den Ausnahmen handelt es sich jeweils um geringe Fibrinin- oder -exsudationen von lockerer, wolkiger Konsistenz.
Diese Gesetzmäßigkeiten gelten für alle Arten der eingangs genannten, vom Endometrium ausgehenden Carcinome.
Sie sind unabhängig vom Alter der Tumorträger, d.h., sie werden sowohl bei der menstruierenden Frau, als auch bei Patientinnen in der Menopause festgestellt.

c. Vergleich der Fibrinanteile anderer weiblicher Malignome:

Als Nebenuntersuchung wurden vergleichsweise die Fibrinanteile anderer Malignome der Frau an wenigen Präparaten untersucht, die nicht als Durchschnittswert gelten sollen, jedoch vielleicht richtungsweisend sind.

Plattenepithelcarcinom der Portio uteri:

Hier müssen die schon vorher genannten Ergebnisse von LUDWIG (63) voll bestätigt werden: ein auffallend fibrinreicher Schnitt mit massiven Fibrinniederschlägen und -ausgüssen, sowie fibrinhaltigen Tumorzellenthromben in den Randkapillaren von Plattenepithelcarcinomnestern. Häufig sind die Plattenepithelcarcinomzapfen durch breite, lamelläre, extravasale Fibrinsäume gegen das gefäßführende Bindegewebe abgegrenzt.

Adenocarcinom der Mamma:

Bei diesem Tumor sind nur sehr geringfügige Mengen intra- und extravasalen Fibrins nachweisbar. Hauptlokalisation ist hier das carcinominduzierte peritubulare Bindegewebe und seine Kapillaren, sowie das dem Tumor benachbarte, noch nicht infiltrierte mammäre Bindegewebe.

Adenocarcinom des Rectums:

Es ist kein Fibrinniederschlag im Tumorgewebe auffindbar. Nur ganz geringe Mengen intra- und extravasalen Fibrins finden sich an der Grenzzone zwischen Carcinom und normalem Gewebe, sowie im dahinter liegenden, nicht tumorinfiltrierten Gewebe der Submucosa und der Muskularis.

## 4. DISKUSSION

Die an dem zur Verfügung stehenden Material von Adenocarcinomen des Corpus uteri durchwegs geringe Menge gefundenen Fibrins, das, als Zeichen geringer Quantität, noch dazu hochgradig aufgelockert war, ist zunächst im Vergleich mit der zum Teil großzügigen Fibrinierung anderer Tumoren, wie des Plattenepithelcarcinoms des Collum uteri, überraschend. Eine Erklärung wäre zu finden in der hohen fibrinolytischen Aktivität des Endometriums und in seinem Reichtum an Fibrinolyseaktivatoren, durch die eine sofortige lytische Beseitigung von Fibrininsudationen bewirkt, beziehungsweise deren Bildung verhindert wird.

Offensichtlich bleiben die Aktivatoren dem Endometrium auch bei maligner Wachstumsform wirkungsvoll erhalten.
Die geringe Fibrinierung dieses Carcinoms sowohl bei menstruierenden, als auch bei Frauen in der Menopause deutet darauf hin, daß diese organgebundene hohe enzymatische Aktivität, die eine Gerinnung des Menstruationsblutes und eine Narbenbildung an der endometrialen Wundfläche physiologischerweise verhindert, unabhängig von der Altersklasse und damit von der hormonellen Lage des weiblichen Organismus zu sein scheint.
Die seltenen Fälle von Fibrindepotbildung beim Adenocarcinom des Corpus uteri entsprechen jedoch lokalisatorisch meist den in der Literatur angeführten Befunden:
a. in der Tumorperipherie und im noch nicht cancerisierten Grenzgewebe (extra- und intravasal) als Wegbereiter invasiven Wachstums;
b. in und um Tumorzellenthromben als Vermittler zwischen Tumorzelle und Gefäßendothel (Metastasierung).

Die Fibrinausschwitzung an Wundflächen nach Operation oder Abrasio entspricht physiologischen Bedingungen (etwas thromboplastische Aktivität entwickelt sich auch an der abradierten endometrialen Wundfläche).
Die Fibrinexsudation um größere, tumorferne Gefäße des Myometriums dürfte auf eine durch Stauung, infolge des meist exophytischen Tumorwachstums, bedingte Gefäßinnendruckerhöhung zurückzuführen sein.

Die vergleichsweise starke Fibrinierung des Plattenepithelcarcinoms des Collum uteri und die geringe Fibrinablagerung in den Adenocarcinomen anderer Lokalisation, wie der Mamma und dem Rectum, lassen eine organunabhängige, aber tumorartspezifische Fibrinbildung vermuten.
Weitere Untersuchungen in dieser Richtung wären wünschenswert.

## VII. THERAPEUTISCHE KONSEQUENZ

Der mehrphasigen Entwicklung maligner Geschwülste müssen Therapie und Prophylaxe Rechnung tragen.
In Anbetracht der Vielfalt cancerogen wirkender Reize kann eine Entstehung von Krebszellen zur Zeit noch nicht verhütet werden, jedoch ist es, nach dem bisher gesagten, möglich einige der für das Carcinomwachstum, seine Metastasierung und Rezidivierung verantwortlichen Faktoren, die die Gerinnungsvalenzen in Blut und Cytoplasma betreffen, therapeutisch zu beeinflussen.

AULER (4) hat bereits im Jahre 1935 bei der Nachbehandlung von erfolglos operierten und bestrahlten Krebspatienten eine günstige Einwirkung durch das antikoagulämisch wirkende Germanin (Bayer 205), das mit Heparin die Polysulfurgruppe gemeinsam hat, beschrieben.
O'MEARA und Mitarbeiter (76), sowie LUTTON (64) und HUGHES (45) konnten bei der Behandlung von Carcinompatienten mit Protaminderivaten einen Rückgang des Tumorvolumens und seiner Metastasen in einem Großteil der Fälle beobachten. Protamin ist ein Polypeptid mit vielen Guanidinogruppen, das, wie Fibrinolysin oder Heparin, den "cancer coagulative factor" neutralisiert (29).
Da nach der Behandlung histologisch die Tumor-Stroma-Relation zugunsten der Tumorzellen verschoben war, wird angenommen, daß vor allem ein Schwund des Tumorstromas stattfindet.
LARSEN und Mitarbeiter (57) behandelten elf Patienten mit inoperablem

oder metastasierendem Carcinom durch intravenöse Plasmininjektionen. Sechs der Patienten besserten sich subjektiv, fünf objektiv, und bei vier von ihnen wurde eine Reduktion der Tumorgröße registriert.
LUDWIG (63) konnte bei einem Krankengut von über 1000 Fällen von Plattenepithelcarcinom des Collum uteri, das kurzfristig während der Strahlenbehandlung einer Antikoagulantienprophylaxe zur Verhütung thrombembolischer Komplikationen unterzogen wurde, eine Verminderung der Rezidivierung um fast 50% gegenüber der nicht mit Antikoagulantien behandelten Kontrollgruppe feststellen, ohne daß ein Fall einer lebensbedrohlichen, unstillbaren Blutung aufgetreten wäre (siehe auch Seite 11-12).
MICHAELS (70) hat Carcinomvorkommen und Mortalität von Patienten, die aufgrund thrombembolischer Erkrankungen mit Antikoagulantien behandelt wurden, verglichen mit Carcinomvorkommen und Mortalität bei der nicht antikoagulämisch erfaßten Allgemeinbevölkerung als Kontrollgruppe. Er fand unter 540 unter Antikoagulantien stehenden Patienten 19 Carcinomträger mit insgesamt 22 Malignomen bei nur einem Todesfall gegenüber 8 Todesfällen in der Kontrollgruppe. Dagegen registrierte MANCHESTER (65) 6 Todesfälle von, wegen thrombembolischer Erkrankungen unter Antikoagulantien-Langzeittherapie stehenden Patienten mit bösartigen Geschwülsten gegenüber nur 2 Todesfällen in der nicht antikoagulämisch behandelten Kontrollgruppe.

Zur Therapie der von mir auf Fibrinvorkommen untersuchten Adenocarcinome des Corpus uteri mit Antikoagulantien muß gesagt werden, daß der therapeutische Effekt dieser Substanzen auf das Endometrium-Carcinom kaum auf Fibrinolyse beruhen kann, sondern anderen der in Kapitel IV genannten gerinnungsspezifischen Tumoreigenschaften zugrunde liegen muß.

In dem Bewußtsein, nur über ein kleines Gebiet des vielgestaltigen Komplexes von Wachstum, Metastasierung und Rezidivierung maligner Geschwülste referiert zu haben und nicht im entferntesten daran denkend, die Vielfalt der morphologischen und klinischen Erscheinungen auf den gemeinsamen Nenner einer "Koagulopathie" bringen zu wollen, rechtfertigen meines Erachtens die hier zusammen getragenen Fakten über die Entwicklung von bösartigen Tumoren aus hämostaseologischer Sicht und nicht zuletzt auch die Therapieerfolge mit Antikoagulantien bei menschlichen Malignomen eine eingehende Prüfung einer zusätzlichen antikoagulämischen Behandlung des Krebses auf breiter Basis.

## VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Es werden die in der Literatur beschriebenen, zur Wachstumshemmung von Normal- und Tumorgewebe verwandten Antikoagulantien aufgezählt und die Ergebnisse ihrer Anwendung bei den verschiedensten menschlichen und tierischen Malignomen erörtert.
Sodann werden verschiedene Möglichkeiten von Wirkungsmechanismen der Beeinflussung des Tumorwachstums durch Antikoagulantien diskutiert. Besonders hervorgehoben werden die gerinnungsspezifischen Eigenschaften von Tumoren, wie z. B. Fibrinierung, Verminderung der fibrinolytischen und Erhöhung der thromboplastischen Aktivität, die Möglichkeit der Absonderung eines Carcinom-Koagulierungsfaktors (cancer coagulative factor) in der Tumorperipherie, sowie die Bedeutung der Carcinomzellenklebrigkeit (cancer cell stickiness) und des Heparin-Cofaktors.
Die Möglichkeit der Inaktivierung dieser Faktoren, die für das infiltrative Wachstum der bösartigen Geschwülste, ihre Metastasierung und Reizidivierung Bedeutung haben, durch Antikoagulantien werden aufgezeigt.
Anhand eigener histologischer Untersuchungen über Fibrinvorkommen beim Adenocarcinom des Corpus uteri wird festgestellt, daß bei diesem Carcinom, im Gegensatz zum Plattenepithelcarcinom des Collum uteri, so gut wie keine tumoreigenen intra- oder extravasalen Fibrindepots angelegt sind. Es wird dies auf die offenbar altersunabhängige, erhöhte fibrinolytische Aktivität des Endometriums zurückgeführt. Eine Wachstumshemmung des Adenocarcinoms des Corpus uteri durch Antikoagulantien auf dem Wege der Lyse von Fibrinniederschlägen scheidet aus.
Die geringe Fibrinablagerung in Adenocarcinomen anderer Organe deutet auf eine organunabhängige, tumorartspezifische Fibrinbildung hin.

Herrn Privatdozent Dr. med. H. LUDWIG danke ich für die Überlassung des Themas und für die freundliche Unterstützung während der Arbeit.

## IX. LITERATURVERZEICHNIS

1. AGOSTINO, D., GROSSI, C.E., CLIFFTON, E.E.:
Effect of heparin on circulating Walker carcinosarcoma 256 cells.
J. Nat. Cancer Inst. 27: 17 (1961).

2. AGOSTINO, D., CLIFFTON, E.E.:
Organ localization and the effect of trauma on the fate of circulating cancer cells.
Cancer Res. 25: 1728 (1965).

3. ANDERSON, N.G.: Cell division. Part I: A theoretical approach to the primeval mechanism, the initiation of cell division and chromosomal condensation.
Quart. Rev. Biol. 31: 169 (1956).

4. AULER zitiert bei KEIL, E.:
Gerinnungsfaktoren und Krebs.
Strahlentherapie 93: 223 (1954).

5. BACK, N., SHIELDS, R.R., De WITT, G., BRANSHAW, R.H., AMBRUS, C.M.: Uptake of fibrinogen and fibrinolytic encymes by neoplastic tissues.
J. Nat. Cancer Inst. 36:171 (1966).

6. BALASZ, A., HOLMGREN, H.:
Effect of sulfomucopolysaccharides on growth of tumor tissue.
Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 72: 142 (1949).

7. BALE, F.W., SPAR, I.L., GOODLAND, R.L.:
Experimental radiation therapy of tumors with $J^{131}$-carrying antibodies to fibrin.
Cancer Res. 20: 1488 (1960).

8. BLUMENTHAL, F.: Über Erzeugung von Tumoren mit Blut von Tumortieren.
Ztschr. f. Krebsforsch. 29: 551 (1929).

9. BOGGUST, W.A., O'BRIEN, D.J., O'MEARA, R.A.Q., THORNES, R.D.: The coagulative factors of normal human and human cancer tissue.
Irish J. Med. Sci. 447: 131 (1963).

10. CLARKE N.P.G.. Intracellular location of tissue thrombo plastin and possible relation to fibrin depo· sits in human neoplasma. Nature 205: 608 (1965).

11. CLARKE, N.P.G., O'MEARA, R.A.Q.: Intracellular location of thromboplastic acitivity in the cells of human chorion. Brit. J. Haemat. 12: 536 (1966).

12. CLIFFTON, E.E., GROSSI, C.E.: Fibrinolytic activity of human tumors as mea sured by the fibrin plate method. Cancer 8: 1146 (1955).

13. CLIFFTON, E.E., GROSSI, C.E.: Effect of human plasmin on the toxic effects and growth of blood-borne meta- stases of the Brown-Pearce carcinoma and the V2-carcinoma of the rabbit. Cancer 9: 1147 (1956).

14. CLIFFTON, E.E., AGOSTINO, D.: Factors affecting the development of metastatic cancer (effect of alterations in clotting mechanism). Cancer 15: 276 (1962).

15. COMAN, D.R.: Mechanisms responsible for the origin and distribution of blood-borne tumormetastases. A review. Cancer Res. 13: 397 (1953).

16. COMAN, D.R.: Adehesiveness and stickiness: two indepen- dent properties of the cell surface. Cancer Res. 21: 1436 (1961).

17. CRAWFORD, T.: The histological identification of fibrin. In: Hunter, R.B., Koller, F., Beck, E.: Fibrinogen and Fibrin. Turnover of clotting factors. F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, 1963.

18. DAY, E.D., PLANINSEK, J.A., PRESSMAN, D.:
Localization in vivo of radioiodinated anti-rat-fibrin antibodies and radioiodinated rat fibrinogen in the Murphy rat lymphosarcoma and in other transplantable rat tumors.
J. Nat. Cancer Inst. 22: 413 (1959).

19. DAY, E.D., PLANINSEK, J.A., PRESSMAN, D.:
Localization of radioiodinated rat fibrinogen in transplanted rat tumors.
J. Nat. Cancer Inst. 23: 799 (1959).

20. DAY, E.D.: Vascular relationship of tumor and host.
Progr. exp. tumor Res. Vol. 4, pp. 57-97.
Karger-Verlag, Basel-New York, 1964.

21. DITTMAR, F.: Antikörper- und Komplementreaktionen bei menschlichem und tierischem Krebs.
Medizinische 1134 (1958).

22. FISCHER, A.: Gewebezüchtung.
Verlag R. Müller und Steinicke, München, 1927, p. 396.

23. FISCHER, A.: Regeneration. Versuche an Gewebekulturen in vitro.
Virch. Arch. 279: 94 (1931).

24. FISCHER, A., NYSTRÖM, P.:
Heparin als wachstumshemmender Stoff.
Biochem. Ztschr. 262: 364 (1933).

25. FISCHER, A.: Über die Wirkung des Heparins auf das Wachstum von Gewebezellen in vitro.
Protoplasma 26: 344 (1936).

26. FISHER, B., FISHER, E.R.:
Experimental studies of factors which influence hepatic metastases. VIII. Effect of anticoagulants.
Surgery 50: 240 (1961).

27. GASTPAR, H.: Metastasierung und Blutgerinnung. In: Deutsch, E., Fischer, M., Lechner, K.: Fibrinstabilisierender Faktor. Struktur des Blutgerinnsels. Krebs und Blutgerinnung. Verhandlungen der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnungsforschung. F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, 1968, p. 119.

28. GERSH, I., CATCHPOLE, H.R.: Organization of ground substance and basement membrane and its significance in tissue injury, disease and growth. Amer. J. Anat. 85: 457 (1949).

29. GLASER, E.M., SPINK, P., O'MEARA, R.A.Q.: A screening test for substances inhibiting the cancer coagulative factor. Nature 208: 1008 (1965).

30. GOERNER, A., SHAFIROFF, B.G.P.: Effect of parathyroid hormone and increased calcium metabolism on growth of tumor tissue. Cancer Res. 12: 294 (1928).

31. GOERNER, A.: The influence of anticlotting agents on transplantation and growth of tumor tissue. J. Lab. Clin. Med. 16: 369 (1930).

32. GREENSTEIN, J.P.: Biochemistry of cancer. Acad. Press, New York, 1947, p. 164.

33. GROSSI, C.E., AGOSTINO, D., CLIFFTON, E.E.: The effect of human fibrinolysin on pulmonary metastases of Walker 256 carcinosarcoma cells. Cancer Res. 20: 605 (1960).

34. GROSSI, C.E., AGOSTINO, D., CLIFFTON, E.E., MELAMED, M.R.: Effect of human fibrinolysin on survival of Walker 256 carcinosarcoma cells in the blood. Cancer 14: 957 (1961).

35. HANNIGAN, F.W., BOGGUST, W.A., O'MEARA, R.A.Q.:
A human serum component required by the cancer coagulative factor.
Europ. J. Cancer 2: 325 (1966).

36. HEILBRUNN, L.V.: The colloid chemistry of protoplasm.
Gebr. Borntraeger-Verlag, Berlin, 1928.

37. HEILBRUNN, L.V., WILSON, W.L.:
Protoplasmic viscosity changes during mitosis in the egg of Chaetopterus.
Biol. Bull. 95: 97 (1948).

38. HEILBRUNN, L.V., WILSON, W.L.:
The effect of heparin on cell division.
Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 70: 179 (1949).

39. HEILBRUNN, L.V., WILSON, W.L.:
The prevention of cell division by anti-clotting agents.
Protoplasma 39: 389 (1950).

40. HEILBRUNN, L.V., WILSON, W.L.:
Effect of bacterial polysaccharide on cell division.
Science 112: 56 (1950).

41. HEILBRUNN, L.V., WILSON, W.L., HARDING, D.:
The action of tissue extracts on cell division.
J. Nat. Cancer Inst. 11: 1287 (1951).

42. HIRAMOTO, R., YAGI, Y., PRESSMAN, D.:
Immunohistochemical studies of antibodies in Anti-Murphy-lymphosarcoma sera.
Cancer Res. 19: 874 (1959).

43. HIRAMOTO, R., BERNECKY, J., JURANDOWSKI, J., PRESSMAN, D.:
Fibrin in human tumors.
Cancer Res. 20: 592 (1960).

44. HIRONO, I.: Ameboid motility of the ascites hepatoma cells and its significance for their invasiveness and metastatic spread.
Cancer Res. 18: 1345 (1958).

45. HUGHES, L.E.: Treatment of malignant disease with protamine sulphate.
Lancet 1: 408 (1964).

46. IWASAKI, T.: Histological and experimental observations on the destruction of tumor cells in the blood vessels.
J. Path. Bact. 20: 85 (1915).

47. KEIL, E.: Gerinnungsfaktoren und Krebs.
Strahlentherapie 93: 223 (1954).

48. KOIKE, A.: Mechanism of blood-borne metastases. I. Some factors affecting the lodgement and growth of tumor cells in the lungs.
Cancer 17: 450 (1964).

49. KOJIMA, K., SAKAI, I.:
On the role of stickiness of tumor cells in the formation of metastases.
Cancer Res. 24: 1887 (1964).

50. KUSCHINSKY, G., LÜLLMANN, H.:
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie.
G. Thieme-Verlag, Stuttgart, 1964.

51. LACOUR, F., OBERLING, Ch., GUERIN, M.:
Influence de l'éthyl-dicoumarol sur l'évolution des métastases de l'épithelioma T8 chez le rat (note préliminaire).
Bull. Assoc. Franç. Et. Cancer 42: 530 (1955).

52. LACOUR, F., OBERLING, Ch., GUERIN, M.:
Influence de l'éthyl-dicoumarol sur l'évolution des métastases de l'épithelioma T8 chez le rat. Nouvelles recherches.
Bull. Assoc. Franç. Et. Cancer 44: 88 (1956).

53. LADEWIG, P.: Über eine einfache und vielseitige Bindegewebsfärbung (Modifikation der Mallory-Heidenhainschen Methode).
Ztschr. f. wiss. Mikr. u. mikr. Technik 55: 215 (1938).

54. LAMIRANDE, G. de, ALLARD, C., da COSTA, H.C., CANTERO, A.:
Intracellular distribution of acid and alkaline ribonuclease in normal rat liver.
Science 119: 351 (1954).

55. LAMIRANDE, G. de, WEBER, G., CANTERO, A.:
In vivo effect of heparin on acid and alkaline ribonuclease activities of mouse liver.
Amer. J. Physiol. 184 : 415 (1956).

56. LANDSBERGER, A.: Die erfolgreiche Behandlung tierexperimenteller Benzpyrensarcome mit Mucopolysaccharidpoly-schwefelsäureester in Kombination mit Dextran.
Klin. Wschr. 40: 542 (1962).

57. LARSEN, V., MORGENSEN, B., AMRIS, C.J., STORM, O.:
Fibrinolytic enzyme in the treatment of patients with cancer.
Danish med. Bull. 11 : 137 (1964).

58. LAWRENCE, E.A., BOWMAN, D.E., MOORE, D.B., BERNSTEIN, G.I.:
Thromboplastic property of neoplasma.
Surg. Forum 3: 694 (1953).

59. LENDRUM, A.C.: Histological appearences of fibrin.
In: Hunter, R.B., Koller, F., Beck, E.:
Fibrinogen and fibrin. Turnover of clotting factors.
F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, 1963.

60. LIPPMAN, M.: The growth inhibitory action of heparin on the Ehrlich ascites tumor in mice.
Cancer Res. 17: 11 (1957).

61. LONG, R.P. de, COMAN, D.R., ZEIDMAN, I.:
The significance of low calcium and high potassium content in neoplastic tissue.
Cancer 3: 718 (1950).

62. LOO, J. van de, GROSS, R.:
Blutgerinnung und Fibrinolyse.
Fa. Bayer, Leverkusen, 1965.

63. LUDWIG, H.: Diskussion in: Deutsch, E., Fischer, M., Lechner, K.:
Fibrinstabilisierender Faktor. Struktur des Blutgerinnsels. Krebs und Blutgerinnung. Verhandlungen der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnungsforschung.
F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, 1968, p. 158

64. LUTTON, A.: Treatment of malignant disease with protamine sulphate.
Lancet 1: 768 (1964).

65. MANCHESTER, B.: Problems in the management of long-term anticoagulant therapy in coronary heart disease.
Progr. cardiovasc. Dis. 6: 272 (1963).

66. MARX, R., BAYERLE, H., MARX, E.:
Über die Blastokolin- und Rhizokolinwirkung einiger Cumarinderivate, insbesondere von 3.3'-Methylen-di-(4-oxycumarin), des spezifischen Hemmstoffes der Prothrombinbildung im Säugetierorganismus.
Biochem. Ztschr. 319: 396 (1949).

67. MARX, R.: Über thrombophile und hämorrhagische Diathese bei Krebs.
In: Deutsch, E., Fischer, M., Lechner, K.: Fibrinstabilisierender Faktor. Struktur des Blutgerinnsels. Krebs und Blutgerinnung. Verhandlungen der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnungsforschung.
F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, 1968, p. 101

68. KUPER, A. zitiert nach Medical Tribune (Ausgabe für Deutschland) 13: 2 (1967).

69. CASH, J.D. zitiert nach Medical Tribune (Ausgabe für Deutschland) 28: 2 (1967).

70. MICHAELS, L.: Cancer incidence and mortality in patients having anticoagulant therapy.
Lancet 2: 832 (1964).

71. MUGGLETON, P.W., Mc LAREN, J.G.:
Effect of protamine sulphate on experimental tumors in mice.
Lancet 1: 409 (1964).

72. O'MEARA, R.A.Q., JACKSON, R.D.:
Cytological observations on carcinomas.
Irish J. med. Sci. 391: 327 (1958).

73. O'MEARA, R.A.Q.: Coagulative properties of cancers.
Irish J. med. Sci. 394: 474 (1958).

74. O'MEARA, R.A.Q.: The growth-pattern of carcinomas.
Arch. De Vecchi Anat. pat. 31: 365 (1960).

75. O'MEARA, R.A.Q.: A systematic approach to the study of the morbid changes induced by spontaneous cancers and their precursors in man.
In: The morphological precursors of cancer.
Perugia, 1962, p. 21.

76. O'MEARA, R.A.Q., O'HALLORAN, M.J.:
Protamine in breast cancers.
Lancet 2: 736 (1963).

77. O'MEARA, R.A.Q., O'HALLORAN, M.J.:
Protamine derivatives in the treatment of advanced carcinoma of the breast.
Lancet 2: 613 (1963).

78. O'MEARA, R.A.Q.: Fibrin formation and the growth of spontaneous cancers in man.
Bull. Soc. int. Chir. XXIII: 24 (1964).

79 O'MEARA, R.A.Q.: Fibrinolytic treatment of cancer.
Lancet 2: 963 (1964).

80. O'MEARA, R.A.Q.: Fibrin formation and tumor growth.
In: Deutsch, E., Fischer, M., Lechner, K.: Fibrinstabilisierender Faktor. Struktur des Blutgerinnsels. Krebs und Blutgerinnung. Verhandlungen der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnungsforschung.
F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, 1968, p.137.

81. PAFF, G.H., SUGIURA, H.T., BOCHER, C.A., ROTH, J.S.:
Probable mechanism of heparin inhibition of mitosis.
Anat. Rec. 114: 499 (1952).

82. REGELSON, W., TUNIS, M.:
The inhibition of mouse tumors by poly-ethylene sulfonate, an anionic polyelectrolyte.
Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 2: 337 (1958).

83. REINHARD, E., GOOD, J., MARTIN, E.:
Chemotherapy of malignant neoplastic diseases.
J. Amer. med. Assoc. 142: 383 (1950).

84. RILEY, J.F.: zitiert aus Gastpar, H.: Physiologische Bedeutung und pharmakologische Wirkungen des Heparin.
F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, p. 91

85. ROTH, J.S.: Effect of total body x-irradiation on some enzymes of rat tissues.
Arch. Biochem. Biophys. 44: 95 (1953).

86. RUSSEL, B.R.G.: The nature of resistance to the inoculation of cancer.
Scientific. Dep. Imperial Cancer Res. Fund 3: 341 (1908).

87. SAPHIR, O.: The fate of carcinoma emboli in the lung.
Amer. J. Path. 23: 245 (1947).

88. SCHMIDT, M.B.: Die Verbreitungswege der Karzinome und die Beziehung generalisierter Sarkome zu den leukämischen Neubildungen.
G. Fischer-Verlag, Jena, 1903, p. 39.

89. SCHMIDT-MATTHIESEN, H.:
Die fibrinolytische Aktivität von Endometrium. Myometrium, Decidua, und Placenta, Kollum- und Korpuskarzinomen.
S. Karger-Verlag, Basel, New York, 1967, p.83.

90. SCHULZ, F.H.: Das Fibrinogen.
VEB Georg Thieme-Verlag, Leipzig, 1953.

91. SEELICH, F.: Abnormale biochemische Reaktionen des Tumorgewebes.
Krebsarzt 7: 197 (1952).

92. SEELICH, F.: Zur Frage der chemischen Ursachen der Gewebsveränderungen in der Umgebung maligner Tumoren.
Krebsarzt 7: 295 (1952).

93. SHEAR, M.J., TURNER, F.C.:
Chemical treatment of tumors; isolation of hemorrhage-producing fraction from Serratia marcescens (Bacillus prodigiosus) culture filtrate.
J. Nat. Cancer Inst. 4: 81 (1943).

94. SHEAR, M.J.: Chemical treatment of tumors; reactions of mice with primary subcutaneous tumors to injection of hemorrhage-producing bacterial polysaccharide.
J. Nat. Cancer Inst. 4: 461 (1944).

95. SHWARTZMAN, G., MICHAILOVSKY, N.:
Phenomenon of local skin reactivity to bacterial filtrates in treatment of mouse sarcoma 180.
Proc. Soc. exp. Biol. 29: 737 (1932).

96. SPAR, I.L., GOODLAND, R.L., BALE, W.F.:
Localization of $J^{131}$-labeles antibody to rat fibrin in transplantable rat lymphosarcoma.
Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 100: 259 (1959).

97. SPAR, I.L., BALE, W.F., GOODLAND, R.L., CASARETT, G.W., MICHAELSON, S.M.: Distribution of injected $J^{131}$-labeled antibody to dog fibrin in tumor-bearing dogs.
Cancer res. 20: 1501 (1960).

98. TEMPERLEY I J The precipitation of fibrinogen by heparin at pH 4,8.

99 TEMPERLEY I J. The estimation of heparin-co-factor in serum.
J. clin. Path. 16: 115 (1963).

100. TERRANOVA, T., CHIOSSONE, F.:
Il fattore coagulazione nell' attecchimento delle cellule neoplastiche immesse in circolo.
Boll. Soc. biol. sper. 28: 1224 (1952).

101. THORNES, R.D., O'MEARA, R.A.Q.:
A method of detecting and estimating inhibitors of the cancer coagulative factor.
Irish J. med. Sci. 428: 361 (1961).

102. WARREN, S., GATES, O.:
The fate of intravenously injected tumor cells.
Amer. J. Cancer 27: 485 (1936).

103. WILLIAMS, W.L. zitiert aus Gastpar, H.:
Physiologische Bedeutung und pharmakologische Wirkungen des Heparins.
F.K.S chattauer-Verlag, Stuttgart, p. 91

104. WOOD, S. jr., HOLYOKE, E.D., YARDLEY, J.H.:
An experimental study of adrenal steroids, growth hormone and anticoagulants on pulmonary metastasis formation in mice.
Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 2: 157 (1956).

105. WOOD, S. jr., YARDLEY, J.H., HOLYOKE, E.D.:
The relationship between intravascular coagulation and the formation of pulmonary metastases in mice injected intravenously with tumor suspension.
Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 2: 260 (1957).

106. WOOD, S. jr.: Pathogenesis of metastasis formation observed in vivo in the rabbit ear chamber.
Arch. Path. 66: 550 (1958).

107. ZAHL, P.: Action of bacterial toxins on tumor. Factors and their use for cancer therapy.
J. Nat. Cancer Inst. 11: 279 (1950).

108. ZAKRZEWSKI, Z.: Untersuchungen über den Einfluß von Heparin auf das Wachstum der Sarkomzellen in vitro.
Ztschr. f. Krebsforsch. 36: 513 (1932).

109. ZAKRZEWSKI, Z.: Die Rolle des Prothrombins und Heparins bei der Proliferation und Differenzierung von Geweben. Klin. Wschr. 16:113 (1932).

110. ZÖLLNER, N., FELLIG, J.: Hemmung der Ribonuclease durch Heparin. Naturwissenschaften 39: 523 (1952).

# LEBENSLAUF

Als Sohn des Kinderarztes Dozent Dr. med. habil Hans-Joachim Hartenstein und seiner Ehefrau Erna, geb. Vogel, wurde ich, Reiner Hartenstein, am 29. April 1939 in Leipzig geboren. Nach der Volksschulzeit in Leipzig besuchte ich das Französische Gymnasium in Berlin. Dort legte ich auch im Jahre 1959 die Reifeprüfung ab.

Mein Medizinstudium begann ich im Sommersemester 1960 an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, wo ich auch, außer einem klinischen Semester an der Universität Innsbruck, bis zum ärztlichen Staatsexamen verblieb.

Meine Ausbildung als Medizinalassistent führte mich bisher in die Chirurgie, Gynäkologie, Anästhesie, Pathologie und innere Medizin.

# DIE OPERATION DER SPASTISCHEN HÜFTL

BRUNHILDE F